

THESIS

MUNICH

1966

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS
VON HEPARINOID UND MER 29
AUF DIE FOLGEN
DER EXPERIMENTELLEN HYPERCHOLESTERINÄMIE

Erich Hauer

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUS DER AUGENKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. H. Remky

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS
VON HEPARINOID UND MER 29
AUF DIE FOLGEN
DER EXPERIMENTELLEN HYPERCHOLESTERINÄMIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Erich Hauer
aus Regensburg

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. H. J. KÜCHLE
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. H. REMKY
Dekan:	Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 6.12.1966

M E I N E N E L T E R N

I N D A N K B A R K E I T G E W I D M E T



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	7
B. LITERATURÜBERSICHT	8
1. Heparinoid	10
2. MER 29 (Triparanol)	12
C. METHODIK DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN	13
I. Versuchsanordnung	13
II. Versuchsdurchführung	14
D. VERSUCHSERGEBNISSE	17
I. Blutchemische Befunde	17
II. Arcus lipoides corneae	21
III. Organanalysen	22
IV. Makroskopisch sichtbare atheromatöse Aortenveränderungen	26
V. Gewichtsverlauf	26
E. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	28
F. ZUSAMMENFASSUNG	29
G. LITERATURVERZEICHNIS	31

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Unter den in den letzten Jahren erheblich ansteigenden Kreislaufkrankheiten spielt die Arteriosklerose eine große Rolle. Dadurch haben auch deren unmittelbare Folgen, wie z.B. Herzinfarkt und Apoplexie erheblich an Häufigkeit zugenommen. Die Statistiken zeigen, daß neben den Todesfällen durch Unfall und Krebs der Herzinfarkt auf dem Boden atherosklerotischer Gefäßwandveränderungen mit zu den häufigsten Todesursachen zählt.

Deshalb erschien es uns wichtig, experimentelle Untersuchungen über die Entstehungsweise der arteriosklerotischen Gefäßveränderungen anzustellen und die Möglichkeit einer therapeutischen Beeinflussung dieser Gefäßkrankung zu prüfen.

In der vorliegenden Arbeit wurde bei Kaninchen der Einfluß von Heparinoid und MER 29 auf die Ausbildung einer durch Cholesterinmast künstlich erzeugten Atherosklerose untersucht.

B. LITERATURÜBERSICHT

Man ist heute der Auffassung, daß der arteriosklerotische Umbau der Gefäße durch eine Wechselwirkung zwischen Blut- und Gefäßwandfaktoren hervorgerufen wird.

ASCHOFF's Nachweis anisotroper Fettpartikel in der Intima atheromatöser Gefäße im Jahre 1910, bei denen es sich um Cholesterin handelte, wie WINDAUS in demselben Jahr nachweisen konnte, leitete die Ära der Fütterungsversuche ein.

Schon 1909 war es IGNATOWSKI als erstem gelungen, eine dem morphologischen Bild der menschlichen Atherosklerose entsprechende Aortenveränderung bei Kaninchen hervorzurufen. Er verfütterte eine tierische Nahrung, hauptsächlich Milch und Eigelb, und konnte damit eine Atheromatose der Aorta erzeugen. Er glaubte, daß diese Aortenveränderung auf die schädigende Wirkung des tierischen Eiweisses zurückzuführen sei.

ANITSCHKOW und CHALATOW gelang es 1913 nachzuweisen, daß die durch Fleisch-, Milch- und Eigelbverfütterung hervorgerufenen atheromatösen Gefäßveränderungen auf dem Cholesteringehalt dieser Nahrungsmittel beruhten. Durch Cholesterinverfütterung wurden solche Gefäßalterationen verursacht, wobei die erzielten Veränderungen sich in ihrer Intensität der Menge des zugeführten Cholesterins direkt proportional verhielten (ANITSCHKOW 1913).

1916 konnte VERSÉ durch Verfütterung eines Cholesterin-Olivenöl-Gemisches an Kaninchen eine Lipämie hervorrufen und er konnte zeigen, daß es schon sehr frühzeitig, noch vor der sichtbaren Lipämie zum Auftreten einer streifigen Trübung des Cornealrandes kommt. VERSÉ bezeichnete diese Lipoidinfiltration der Cornea als *Arcus lipoides* und setzte diese dem "Arcus senilis" des Menschen gleich. Er zeigte weiterhin, daß keineswegs nur die Cornea eine Fettinfiltration aufweist, sondern auch die Sklera und die Uvea.

Dies wurde auch von ROHRSCHEIDER, dem wir die klinische Gradeinteilung des Arcus lipoides verdanken, 1924 angeführt, dessen Untersuchungen ergaben, daß die Verfettung am meisten das Corpus ciliare, als nächstes die Sklera, dann erst die Iris und die Cornea betreffen. Er fand weiterhin, daß hier keine fettige Degeneration der Gewebe vorliegt, sondern daß es sich hierbei um eine Fettspeicherung bei erhöhtem Angebot handelt.

Spätere Untersuchungen ergaben, daß bei der Atherogenese bestimmte Lipoproteinfractionen eine wichtige Rolle spielen. Durch elektro-

phoretische Untersuchungen und durch die Einführung der Ultrazentrifuge konnten weitere Fraktionierungen der Serumlipoproteine vorgenommen werden. So konnte bei der Arteriosklerose eine Vermehrung der Beta-Lipoproteine bei gleichzeitiger Verminderung der Alpha-Lipoproteine festgestellt werden, der Cholesterin-Phospholipid-Quotient wurde oft erhöht gefunden (RUSS 1951; WAKERLIN 1952).

Mit Hilfe der Ultrazentrifuge, mit der es gelang, die einzelnen Lipoproteinemoleküle auf Grund der verschiedenen Sedimentations- und Flotationskonstanten zu trennen, gelang es GOFMAN 1950 nachzuweisen, daß Lipoproteinemoleküle, die mit einer Flotationskonstante von S_f 10-20 wandern, in einem engen Zusammenhang mit der Arteriosklerose stehen.

In der Folgezeit gelang es nachzuweisen, daß bei der Arteriosklerose auch Veränderungen der Plasmaproteine und -proteide vorliegen, wie z.B. Vermehrung der neutralen Glykoproteide, Verminderung des Gesamteiweißes und der Albuminfraktion bei gleichzeitiger Vermehrung der Alpha₂-Globulinfraktion (VOIGT 1957).

Es ist in neuerer Zeit noch auf die Bedeutung einer Erhöhung der Triglyceride bei der Arteriosklerose hingewiesen worden (SCHETTLER 1963).

All diese bei der Arteriosklerose zu beobachtenden Serumveränderungen können nach Ansicht VOIGT's allein noch nicht zu einer Arteriosklerose führen. Sie stellen nur einen Faktor, den "Blutfaktor" bei der Entstehung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen dar. Neben ihm sieht VOIGT noch das Hinzukommen eines "Gefäßwandfaktors" als Voraussetzung für das Entstehen des arteriosklerotischen Wandumbaus an. Er kam zu dem Schluß, daß bei der Arteriosklerose die blutchemischen Verhältnisse wie auch die Veränderungen der Gefäßwandstruktur offenbar als sekundäre Auswirkungen einer übergeordneten primären Stoffwechselstörung wohl fermentativer Art anzusehen sind.

In einer zusammenfassenden Arbeit JIPP's über den neuesten Stand der Pathogenese der Arteriosklerose wird 1965 betont, daß zu Beginn des arteriosklerotischen Prozesses, noch vor dem Auftreten des initialen Intimaödems, eine Vermehrung der sauren Mucopolysaccharide im subendothelialen Bereich der Gefäßwand auftritt und es zu einer Steigerung der Proteinsynthese als Ausdruck einer Stoffwechselaktivierung der ortständigen Bindegewebszellen kommt. Danach erfolgt eine Bildung kollagener Fasern, es erfolgen Übergänge von kollagenen in elastische Elemente und schließlich resultiert eine faserreiche Intimaverdickung, es entsteht der Skleroseherd. Neben dieser intramuralen Faserneubildung erfolgt eine Ablagerung von Plasmalipoiden

und -lipoproteiden, die mit dem ernährenden intramuralen Perfusionsstrom in die Gefäßwand gelangen. Während der Wandpassage erfahren sie sekundäre Veränderungen durch fermentative Ab- und Umbauvorgänge. Dabei stellt nach JIPP eine Erhöhung der Plasmalipide und -lipoproteide keine zwangsläufige Voraussetzung für die Entstehung der Arteriosklerose dar, wenn auch Hyperlipämie und Hypercholesterinämie den Gefäßwandumbau richtungsweisend beeinflussen.

1. Heparinoid

Bei dieser Substanz handelt es sich um einen N-Formyl-chitosanpolyschwefelsäureester. Es ist ein teilsynthetisches Heparinoid, das wie Heparin die Fähigkeit der Klärfaktoraktivierung aufweist, jedoch eine geringere gerinnungshemmende Wirkung besitzt.

1943 fand HAHN durch eine Zufallsbeobachtung, daß Heparin imstande war, lipämisch getrübe Hundeseren aufzuhellen. Dabei zeigte sich, daß diese "Klärwirkung" in vivo prompt eintrat und dabei wiederholt reproduziert werden konnte, daß sie jedoch ausblieb, wenn man Heparin in vitro lipämisch getrubtem Blut oder Plasma zusetzte. Diese bis dahin unbekannte Heparineigenschaft löste in den folgenden Jahren zahlreiche Nachuntersuchungen aus.

1950 konnten ANDERSON und FAWCETT zeigen, daß auch in vitro eine Lipämieklärung eintrat, wenn man das lipämische Blut mit zuvor heparinisiertem, nicht lipämischen Plasma vermischt. Sie nahmen an, daß das Klärungsphänomen auf der Bildung eines Heparin-Phosphorlipoid-Komplexes beruht, der sich sofort nach Heparininjektion bildet.

SEITZ und ZÖLLNER vermuteten die Klärwirkung des Heparins darin, daß es die Plasmafette in einen Zustand der feineren Dispersion überführt und dadurch lipolytische Fermente die Plasmafette besser angreifen könnten als dies im lipämischen Zustand der Fall wäre.

Sie fanden 1955 bei der Prüfung der Wirksamkeit synthetischer Heparinoide, daß die Lipämieklärung eine Eigenschaft vieler heparinähnlicher Substanzen sein kann. Sie vermuteten, daß die lipämieklärende Wirkung dieser Substanzen auf ihrem Aufbau aus langkettigen Polysacchariden, welche Schwefelsäureestergruppen tragen, beruht.

Die Einführung Heparins in die Therapie der experimentellen Arteriosklerose

und der menschlichen Coronarsklerose geschah 1951 durch GRAHAM, LYON, GOFMAN und Mitarbeiter. Sie konnten durch Untersuchungen mit der Ultrazentrifuge zeigen, daß unter Heparinverabreichung die atherogenen Lipoproteine der hohen S_f -Klasse in Lipoproteinmoleküle mit kleineren S_f -Werten abgebaut wurden. Sie fanden weiterhin bei ihren Untersuchungen, daß durch Heparininjektionen bei einem hohen Prozentsatz der Patienten schwere pektanginöse Zustände prompt beseitigt werden konnten und daß bei cholesterin-gefütterten Tieren die Ausbildung atheromatöser Gefäßveränderungen weitgehend zu verhindern waren.

Zahlreiche Untersuchungen schlossen sich nun an, wobei neben guten klinischen Erfolgen auch Berichte über eine Wirkungslosigkeit des Heparins erstattet wurden.

Positive Ergebnisse bei der Heparintherapie arteriosklerotischer Durchblutungsstörungen fanden ENGELBERG (1952), KELLNER (1954), LEVER (1955/56), FISCHER und KROETZ (1957); MYLIUS und STARK konnten 1955 über eine Normalisierung pathologisch erhöhter Beta-Lipoproteine berichten.

Diesen günstigen Ergebnissen stehen andere gegenüber, die keinen eindrucksvollen Erfolg bei der Heparinbehandlung der arteriosklerotischen Erkrankungen erbringen konnten.

So liegen Mitteilungen vor von GRÜNER und Mitarb., die 1953 bei Patienten mit Angina pectoris sowohl bei Heparingaben als auch bei Verabreichung von Placebos Erfolge erzielten. MOSES und RHODES überprüften 1955 die Wirkung von Depot-Heparin bei Cholesterinfütterungsversuchen mit Kaninchen. Es zeigte sich dabei, daß das Auftreten einer Fütterungsatheromatose nicht eingeschränkt werden konnte. Es resultierten bei den mit Heparin behandelten Kaninchen sogar höhere Lipoidwerte im Serum als bei den ausschließlich mit Cholesterin gefütterten Tieren.

THURNHERR und NIEDERBERGER zeigten 1954 in einer Literaturübersicht des bis dahin vorliegenden Schrifttums über die Wirksamkeit des Heparins bei Angina pectoris und bei peripherer Atherosklerose, daß sich die Berichte über die Wirksamkeit etwa die Waage halten. Bei ihren eigenen Fällen konnte in der Mehrzahl eine Besserung erzielt werden.

2. MER 29 (Triparanol)

Triparanol stellt chemisch ein Triphenyläthylenderivat dar, das strukturell dem Chlorotrianisen, einem synthetischen Östrogen ähnlich ist. Das Triparanol besitzt nach HOLLANDER (1959) keine erkennbaren feminisierenden Wirkungen und kann deshalb als nicht feminisierendes Östrogen betrachtet werden.

Die unterschiedliche Häufigkeit der Arteriosklerose bei Frauen und Männern wird schon seit langem diskutiert.

Es ist zweifelsfrei, daß Frauen vor der Menopause seltener und dann meist geringgradig an einer allgemeinen und coronaren Gefäßsklerose erkranken als gleichaltrige Männer. Diese Unterschiede verwischen sich nach der Menopause.

WUEST, DRY und EDWARDS fanden bei ihren Untersuchungen 1953, daß bei Frauen, die im geschlechtsreifen Alter kastriert werden mußten, häufigere und schwerere Coronarsklerosen auftreten als bei nicht ovariectomierten Frauen. Über ähnliche Ergebnisse berichteten RIVIN und DIMITROFF 1954; auch sie wiesen auf die sklerosehemmende Wirkung normaler Ovarialfunktion hin. Darüber hinaus konnten diese beiden Forscher bei der Untersuchung stilböstrolbehandelter Prostatacarcinomkranker feststellen, daß diese Patientengruppe seltener Zeichen einer Arteriosklerose aufwiesen als Kontrollpersonen und daß die Anzeichen einer Arteriosklerose unter der Gruppe der Prostatacarcinomkranken geringer war, die mit einer höheren Stilböstroldosis behandelt wurden als bei solchen die geringe Stilböstrolmengen erhielten.

RUSS, EDER und BARR berichteten 1955, daß durch die Verabreichung östrogenen Hormone pathologische Lipoproteinkonstellationen normalisiert werden können. ROBINSON und Mitarb. berichteten 1956, daß die Verabreichung östrogenen Hormone erhöhte Serumcholesterinwerte senken und eine Normalisierung des Cholesterin-Phospholipid-Quotienten bewirken kann. BLOHM und Mitarb. sahen 1957 bei ihren Cholesterinfütterungsversuchen an Sittichen unter Stilböstrolbehandlung eine gute Beeinflussung atheromatöser Gefäßwandveränderungen.

HOLLANDER nahm Untersuchungen des Cholesterinstoffwechsels mit Radioisotopen vor und konnte damit nachweisen, daß MER 29 eine Verminderung der Cholesterinsynthese bedingt.

Bei der Verabreichung von MER 29 konnte HOLLANDER 1959 eine Senkung des Cholesterinspiegels und eine günstige Beeinflussung des Verhältnisses Serumcholesterin : Serumphospholipid nachweisen.

Die widersprechenden Literaturangaben über den Einfluß des Heparinoids auf die Entstehung der Arteriosklerose veranlaßte uns zu einer erneuten Überprüfung der

Wirksamkeit dieser Substanz. Wegen der noch relativ geringen Angaben in der Literatur über die MER-Wirkung hielten wir zusätzliche Untersuchungen mit MER 29 und den Vergleich dieser Substanz mit Heparinoid bezüglich der Wirksamkeit und der Wirkungsweise für sinnvoll.

C. METHODIK DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

I. Versuchsanordnung

Die eigenen Versuche wurden an 21 Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Durchschnittsgewicht von 2600 g durchgeführt.

Das Durchschnittsalter der Tiere betrug 9 Monate, die Versuchsdauer 14 Wochen.

Zur Durchführung des Versuchs wurden die Tiere in 3 Gruppen eingeteilt, wobei eine Verteilung der einzelnen Würfe auf die verschiedenen Gruppen erfolgte, um individuelle Unterschiede nach Möglichkeit auszuschalten.

GRUPPE I	GRUPPE II	GRUPPE III
101	1	2
105	6	7
106	16	12
109	21	17
112	25	22
115	29	26
118		30
121		

Bei Gruppe I starben vor Versuchsende die Kaninchen Nr. 105 und 115, bei Gruppe II die Tiere Nr. 1, 6, 21 und 29, bei Gruppe III die Kaninchen Nr. 7, 17, 22, 26 und 30.

Sämtliche Tiere erhielten neben einer normalen Kost, bestehend aus Rüben, Grünzeug und Körnerfutter, täglich je 1 g Cholesterin in 2 ccm Olivenöl.

Darüber hinaus bekamen die Kaninchen der Gruppe II 60 mg Heparinoid pro die i. m. verabreicht, die Tiere der Gruppe III 50 mg MER 29 pro die oral.

Das Gemisch aus Cholesterin und Olivenöl wurde jeweils in der für 1 Woche benötigten Menge hergestellt. Wir vermischten die beiden Stoffe im Verhältnis 1 : 2, erhitzen das Gemisch auf etwa 70° C und ließen unter ständigem Umrühren den bei dieser Temperatur homogenen Brei im Wasserbad abkühlen.

Das in Olivenöl gelöste Cholesterin wurde den Tieren durch eine Schlundsonde (Nélaton-Katheter Nr. 18) verabreicht. Das Heparinoid gaben wir in Form intramuskulärer Injektionen in den oberen Bereich der beiden Hinterläufe. Die Tagesdosis betrug 60 mg, entsprechend 0,15 ccm einer Ampulle, dies entsprach einer Dosierung von ungefähr 20 mg/kg Körpergewicht. Das MER 29 stand uns in Kapselform zur Verfügung. Das darin enthaltene Pulver wurde nach Öffnen der Kapsel in Wasser aufgelöst und dann mittels der Schlundsonde p.o. verabreicht. Die täglich applizierte Menge an Reinsubstanz betrug 50 mg/Tier.

Wir haben bei der Cholesterinverfütterung jeweils nur an den Sonntagen ausgesetzt und an diesen Tagen keine Medikamente verabreicht.

II. Versuchsdurchführung

Die Versuche dauerten 14 Wochen, außer den Cholesterinfütterungen und der Verabreichung von Heparinoid bzw. MER 29 haben wir folgende Maßnahmen getroffen:

1. Gewichtskontrolle

Sämtliche Tiere wurden alle 14 Tage gewogen.

2. Blutchemische Untersuchungen

Wir entnahmen jedem Tier vor Fütterungsbeginn zweimal und während des Versuches in regelmäßigen Abständen 10 ccm Venenblut (aus der Ohrvene). Danach erfolgten folgende Serumuntersuchungen:

a) Bestimmung des Gesamtcholesterins

Wir bedienten uns dabei der Methode von SCHÖNHEIMER und SPERRY.

b) Bestimmung des Glukosamins im Serum

Diese erfolgte nach der Methode von ELSON und MORGAN.

c) Bestimmung des Gesamteiweisses im Serum

Diese wurde mit der bekannten Biuretreaktion durchgeführt.

d) Papierelektrophorese

Mit ihr erfolgte die Trennung der einzelnen Eiweißfraktionen.

3. Regelmäßige Untersuchungen der Hornhaut

Sie dienten zur Beobachtung der Ausbildung und Weiterentwicklung des Arcus lipoides corneae.

In regelmäßigen Abständen wurde die makroskopisch sichtbare Arcus-lipoides-Bildung beobachtet und der Befund durch folgende Gradeinteilung nach ROHRSCHEIDER festgelegt:

Grad 0 = kein Arcus

Grad 1 = stellenweise schmaler Arcus

Grad 2 = stellenweise breiter Arcus oder schmaler Arcus im ganzen Umfang der Cornea

Grad 3 = breiter Arcus im ganzen Umfang der Cornea

Grad 4 = ausgedehnte, bis ins Parazentrum hineinreichende Einlagerungen an mehreren Stellen.

4. Organanalysen

Nach 12- bis 14-wöchiger Fütterung dekapitierten wir die Kaninchen Nr. 101, 106, 109, 112, 118, 121, 16, 25, 2, 12. Das bei der Tötung aus den Carotiden strömende Blut wurde zur letzten Bestimmung der Serumwerte aufgefangen.

Anschließend nahmen wir eine Enukleation der Augen vor und führten die Sektion der Kaninchen durch. Dabei haben wir folgendes Sektionsmaterial untersucht:

Augengewebe

Leber

Aorta

Nach Enukleation der Augen wurde in den einzelnen Teilen (Sklera, Uvea, Lens und Cornea) der quantitative Cholesteringehalt bestimmt. Die Gewinnung der einzelnen Augengewebe erfolgte auf folgende Weise: Die Cornea wurde am Limbus sorgfältig abgetragen, durch Druck auf den hinteren Bulbusabschnitt fiel die Linse aus der eröffneten vorderen Augenkammer und konnte nun leicht vom Glaskörper getrennt werden. Die restliche Bulbuskapsel wurde umgestülpt und die gesamte Uvea abgezogen, so daß als letztes die gereinigte Sklera übrig blieb.

Aus der Leber wurde ein 3 g wiegendes Gewebstück entnommen. Auch hier erfolgte eine quantitative Bestimmung des Cholesteringehalts.

Die Aorta wurde vom Herzen bis zur Teilung in die Aa. iliacae freipräpariert, die atheromatösen Veränderungen je nach ihrer Ausdehnung in verschiedene Grade eingeteilt. Im Anschluß daran wurden die Aorten verarbeitet und ihr quantitativer Gehalt an Cholesterin bestimmt.

Die einzelnen Organstücke wurden auf Filterpapier sorgfältig getrocknet, mit Hilfe der analytischen Waage gewogen und kleingeschnitten. Die Extraktion des Cholesterins erfolgte mit BLOOR's REAGENZ (3 Teile 95 %iger Alkohol, 1 Teil Äther) in folgenden Mengenverhältnissen zum Organgewicht:

Leber	1 : 12,5
Uvea	1 : 30
Cornea	1 : 30
Sklera	1 : 30
Linse	1 : 25
Aorta	1 : 30

Bei jedem Arbeitsgang wurde der dritte Teil des Gesamtvolumens verwendet.

Zu dem grob zerkleinerten Organ wurde BLOOR's REAGENZ hinzugefügt und dann anschließend im Homogenisator bei einer Umdrehungszahl von 50 000 pro Minute 2 x 2 Minuten homogenisiert, danach wurde zentrifugiert und das Überstehende in Erlenmeyerkölbchen abgegossen.

Diesen Arbeitsvorgang wiederholten wir dreimal, den Extrakt ließen wir über Nacht stehen. Am nächsten Tag erfolgte die Ergänzung des Extrakts auf das Ausgangsvolumen, dann die Verseifung, Fällung, Isolierung und Bestimmung des Cholesterins.

D. VERSUCHSERGEBNISSE

I. Blutchemische Befunde

1. Serumcholesterin

Unter Cholesterinfütterung trat bei sämtlichen Tieren eine Erhöhung des Cholesterinspiegels im Serum ein (s. Tab. 1). Der Cholesterinanstieg war bei Gruppe II im Mittel stärker, bei Gruppe III geringer als bei unserer Kontrollgruppe, der Gruppe I.

Signifikante Unterschiede zwischen den behandelten und den unbehandelten Tieren bestanden jedoch nicht, wobei wir, wie auch bei allen anderen Vergleichen $P < 0,01$ forderten.

2. Serumglukosamin

Der Glukosaminspiegel im Serum stieg im Durchschnitt bei Gruppe I und II an, nicht dagegen bei Gruppe III (s. Tab. 2). Auch hier kam es jedoch in keiner der beiden behandelten Gruppen zu signifikanten Unterschieden im Vergleich zur Gruppe I.

3. Gesamteiweiß im Serum

Unter Cholesterinfütterung kam es bei sämtlichen Tieren zu einem Anstieg des Gesamteiweißes im Serum, am auffälligsten bei den Kaninchen der Gruppe II (s. Tab. 3). Das Gesamteiweiß im Serum dieser Tiere war nach 6-wöchiger Fütterung signifikant höher als in Gruppe I. Die Gruppe III zeigte keinen signifikanten Unterschied zu den unbehandelten Tieren.

TABELLE 1

Gesamtcholesterin im Serum.

Angaben jeweils in mg%

Kaninchen Nr.	Vor Beginn	Nach 6 Wochen	Nach 12 Wochen
GRUPPE I			
101	49	1260	872
105	62	811	---
106	--	549	509
109	48	832	584
112	75	347	630
115	84	---	---
118	106	820	1091
121	77	788	1216
Mittelwert und Streuung	71,6 $\pm$ 19,04	772,4 $\pm$ 260,8	817 $\pm$ 265
GRUPPE II			
1	73	1510	1030
6	50	782	----
16	41	683	915
21	52	842	---
25	49	690	540
29	39	---	---
Mittelwert und Streuung	50,7 $\pm$ 11,06	901,4 $\pm$ 306,8	828,3 $\pm$ 209,8
GRUPPE III			
2	41	640	685
7	32	758	---
12	28	448	433
17	29	---	---
22	32	530	890
26	25	---	---
30	36	---	---
Mittelwert und Streuung	31,9 $\pm$ 4,9	594,0 $\pm$ 116,7	669,3 $\pm$ 186,9

TABELLE 2

Serumglukosaminwerte in mg%

Kaninchen Nr.	Vor Beginn	Nach 6 Wochen	Nach 12 Wochen
GRUPPE I			
101	15,4	48,0	49,0
105	14,6	48,6	----
106	21,2	44,0	18,6
109	21,2	36,6	27,0
112	25,0	31,2	29,6
115	34,0	----	----
118	17,4	93,0	53,3
121	31,2	61,6	69,0
Mittelwert und Streuung	22,5 $\pm$ 6,7	51,9 $\pm$ 19,0	41,1 $\pm$ 17,4
GRUPPE II			
1	24,6	48,0	44,0
6	30,4	43,8	----
16	30,4	34,0	32,6
21	31,2	36,8	----
25	26,8	40,4	31,1
29	25,2	----	----
Mittelwert und Streuung	28,1 $\pm$ 2,7	40,6 $\pm$ 5,0	35,9 $\pm$ 5,8
GRUPPE III			
2	29,6	28,6	31,8
7	29,2	31,0	----
12	31,8	23,8	26,4
17	30,0	----	----
22	26,8	33,2	34,8
26	28,8	----	----
30	28,8	----	----
Mittelwert und Streuung	29,3 $\pm$ 1,4	29,2 $\pm$ 3,5	31,0 $\pm$ 3,5

TABELLE 3

Gesamteiweiß im Serum in g%

Kaninchen Nr.	Vor Beginn	Nach 6 Wochen	Nach 12 Wochen
GRUPPE I			
101	5,34	6,06	6,18
105	5,24	6,21	----
106	5,30	5,64	6,06
109	5,22	5,44	6,46
112	5,72	6,01	6,71
115	6,05	----	----
118	5,90	6,69	6,91
121	5,15	5,94	6,92
Mittelwert und Streuung	5,49 $\pm$ 0,33	5,99 $\pm$ 0,37	6,54 $\pm$ 0,34
GRUPPE II			
1	4,93	6,08	6,57
6	4,87	5,69	----
16	5,37	6,45	6,49
21	4,95	6,14	----
25	5,28	6,48	6,49
29	4,72	----	----
Mittelwert und Streuung	5,02 $\pm$ 0,23	6,17 $\pm$ 0,29	6,52 $\pm$ 0,19
GRUPPE III			
2	4,87	6,28	6,58
7	5,46	6,17	----
12	5,34	5,57	5,53
17	5,10	----	----
22	5,89	6,75	6,49
26	4,89	----	----
30	4,95	----	----
Mittelwert und Streuung	5,21 $\pm$ 0,35	6,19 $\pm$ 0,42	6,20 $\pm$ 0,48

4. Elektrophorese

Mit Hilfe der Papierelektrophorese wurde eine Fraktionierung der einzelnen Serumeiweiße getroffen.

Wir konnten feststellen, daß der Anstieg des Gesamteiweißes hauptsächlich auf einer Zunahme der Globulinfraktion und hier besonders der Beta- und Gamma-Globulinfraktion beruht. Die Albuminfraktion zeigte nach 12 Wochen ein umgekehrtes Verhalten, sie sank bis zum Versuchsende auf Werte ab, die unterhalb der Ausgangswerte lagen (s. Tab. 4). Der zu diesem Zeitpunkt vorliegende mittlere Albuminwert der unbehandelten Tiere war signifikant niedriger als bei Gruppe II.

Die Beta-Globulinfraktion war -unter Berücksichtigung der Ausgangswerte- bei Gruppe III nach 6-wöchiger Cholesterinfütterung signifikant höher als bei den unbehandelten Tieren; nach 12-wöchiger Fütterung war der Unterschied nicht signifikant.

Bei den übrigen Fraktionen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Kaninchen.

II. *Arcus lipoides corneae*

Die Tabelle 5 zeigt einen Überblick über die Entwicklung des *Arcus lipoides*. Dabei erfolgte eine Einteilung in Grad 0 - 4 (nach ROHRSCHEIDER).

Bei sämtlichen Tieren aller drei Gruppen bestand gegen Versuchsende eine *Arcus lipoides*-Bildung. Bei dem Kaninchen Nr. 112 trat diese am spätesten auf, erst in der zehnten Woche nach Fütterungsbeginn, bei Versuchsende war hier lediglich ein Arcusgrad 1 vorhanden. Noch weitere Tiere der Gruppe I wiesen eine zeitlich spätere Ausbildung des *Arcus lipoides* auf. Andererseits fanden wir bei dem Kaninchen Nr. 109, das zur Gruppe I gehörte, als einzigem den Arcusgrad 4.

Bei Vergleich der unbehandelten Tiere mit der Gruppe II und III sehen wir, daß weder Heparinoid noch MER 29 die durch Cholesterinfütterung bedingte Arcus-Entwicklung verhindern konnte und daß sogar die behandelten Tiere im Durchschnitt eine frühzeitige und rascher sich entwickelnde Arcus-Bildung aufweisen. Auch zwischen der Heparinoid-Gruppe und der MER-Gruppe ergaben sich keine nennenswerten Unterschiede.

III. Organanalysen

Bei der quantitativen Bestimmung des Cholesterins in der Leber sahen wir den höchsten Cholesteringehalt bei der Kontrollgruppe, den niedrigsten bei Gruppe I (s. Tab. 6). Es bestand dabei eine überwiegende Übereinstimmung zwischen den einzelnen Serumcholesterinwerten und der Cholesterinspeicherung in der Leber.

Bei den verschiedenen Augengeweben zeichnete sich die Uvea, wahrscheinlich infolge ihres Blutreichtums, durch einen im Vergleich zu den übrigen Augengeweben hohen Cholesteringehalt aus. Eine geringe Cholesterinspeicherung lag in der Cornea und vor allem in der Linse vor.

Beim Vergleich des Cholesteringehalts in Uvea, Cornea, Sklera und Linse der Gruppe I mit Gruppe II und Gruppe III sehen wir, daß die Cholesterinspeicherung zwar im Durchschnitt bei den behandelten Tieren niedriger war als bei den unbehandelten, der Unterschied war jedoch nicht signifikant (s. Tab. 6).

Die Cholesterinspeicherung in der Aorta war bei Gruppe I ebenfalls höher als bei den beiden Gruppen, die Heparinoid bzw. MER erhalten hatten. Jedoch war auch hier -wiederum wegen der kleinen Zahl an Einzelbeobachtungen- kein signifikanter Unterschied zwischen den behandelten und unbehandelten Tieren festzustellen.

TABELLE 4

Elektrophoretische Eiweißfraktionierung.

Angaben in rel. %

	Albumine in rel. %	α -Globuline in rel. %	β -Globuline in rel. %	γ -Globuline in rel. %
GRUPPE I				
Vor Beginn	66,9 $\pm$ 2,74	10,2 $\pm$ 4,80	14,8 $\pm$ 1,87	6,3 $\pm$ 0,88
Nach 6 Wochen	66,8 $\pm$ 3,40	11,9 $\pm$ 1,66	12,4 $\pm$ 2,48	9,0 $\pm$ 0,75
Nach 12 Wochen	53,9 $\pm$ 3,65	13,6 $\pm$ 2,16	20,2 $\pm$ 5,09	13,0 $\pm$ 2,76
GRUPPE II				
Vor Beginn	51,7 $\pm$ 3,17	17,0 $\pm$ 2,79	9,8 $\pm$ 1,23	17,7 $\pm$ 2,8
Nach 6 Wochen	50,8 $\pm$ 2,77	14,6 $\pm$ 1,71	10,8 $\pm$ 0,85	20,1 $\pm$ 2,15
Nach 12 Wochen	45,5 $\pm$ 2,11	16,1 $\pm$ 1,72	14,0 $\pm$ 0,5	20,5 $\pm$ 0,62
GRUPPE III				
Vor Beginn	55,8 $\pm$ 4,07	14,5 $\pm$ 1,40	8,8 $\pm$ 0,67	18,6 $\pm$ 3,39
Nach 6 Wochen	52,5 $\pm$ 4,39	14,2 $\pm$ 1,47	10,4 $\pm$ 2,26	20,2 $\pm$ 2,58
Nach 12 Wochen	47,5 $\pm$ 7,36	15,1 $\pm$ 0,49	11,9 $\pm$ 0,78	21,4 $\pm$ 5,62

TABELLE 5

Arcus lipoides

Tier Nr.	5. Wo.		6. Wo.		7. Wo.		8. Wo.		9. Wo.		10. Wo.		11. Wo.	
	re	li	re	li	re	li	re	li	re	li	re	li	re	li
GRUPPE I														
101	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2
105	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	--	
106	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2
109	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	4	4
112	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
115	1	1	1	1	--		--		--		--		--	
118	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2
121	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
GRUPPE II														
1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2-3	2-3	2-3	3
6	2	2	2	2	3 -	2/3	3	2/3	--		-----		--	
16	1	1	2	1/2	2	2	2/3	2/3	2/3	2/3	3	3	3	3
21	0	0	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/2	1/2	--		--	
25	0	0	1	0/1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
GRUPPE III														
2	1	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1/2	1/2	1/2
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
12	0	1	2	2	2	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	3	2/3	3
22	1	1	1	1	2	2	2	2	+	2/3	+	2/3	+	2/3

+ = das rechte Auge von Nr. 22 war wegen einer interkurrenten Infektion nicht mehr zuverlässig zu beurteilen.

TABELLE 6

Cholesteringehalt der einzelnen Organe in mg%

Kaninchen Nr.	Leber	Uvea	Cornea	Sklera	Linse	Aorta
GRUPPE I						
101	903	1760	106	329	137	1275
106	---	689	62	129	63	----
109	724	---	--	---	--	598
112	424	---	52	235	137	606
118	1600	2070	195	559	103	2045
121	1775	2560	142	570	115	1054
Mittelwert und Streuung	1085 $\pm$ 518	1770 $\pm$ 686	111 $\pm$ 52,7	364 $\pm$ 175,2	111 $\pm$ 27,4	1116 $\pm$ 533
GRUPPE II						
16	860	453	58	120	43	372
25	1110	948	65	342	46	610
Mittelwert und Streuung	985 $\pm$ 125,0	700 $\pm$ 247,5	61 $\pm$ 3,5	231 $\pm$ 111	45 $\pm$ 1,6	491 $\pm$ 119
GRUPPE III						
2	1340	525	90	132	68	521
12	555	310	37	112	44	324
Mittelwert und Streuung	947 $\pm$ 392,5	418 $\pm$ 107,5	63 $\pm$ 26,5	122 $\pm$ 10	56 $\pm$ 12	422 $\pm$ 98,5

IV. Makroskopisch sichtbare atheromatöse Aortenveränderungen

Durch die alimentäre Hypercholesterinämie wurde eine mehr oder weniger deutliche Atheromatose der Aorta hervorgerufen. Zur Beurteilung dieser atheromatösen Aortenveränderungen wurde je nach dem makroskopisch sichtbaren Befall eine unterschiedliche Gradeinteilung getroffen.

Grad I = einzelne Stippchen

Grad II = größere Anhäufung von Stippchen und einzelne Plaques

Grad III = flächenhafte atheromatöse Plaques

Grad IV = ausgedehnte, sich über das ganze Gefäßstück erstreckende atheromatöse flächenhafte Plaques

Unter Cholesterinfütterung kam es bei den Kaninchen zu einer ausgeprägten atheromatösen Veränderung der Aortenwand. Lediglich die Aorta des Kaninchens Nr. 112 (Gruppe I) ließ nur einzelne stippchenförmige Einlagerungen erkennen (s. Tab. 7). Die stärksten Veränderungen zeigte Nr. 101 (ebenfalls Gruppe I) mit einem ausgedehnten massiven atheromatösen Befall des untersuchten Gefäßrohrs. Die übrigen Aorten zeigten keine wesentlichen Gradunterschiede in den einzelnen Gruppen.

V. Gewichtsverlauf

Das Gewicht der Tiere lag in allen drei Gruppen mit Ausnahme eines Tieres der Gruppe III zu Versuchsende höher vor als zu Versuchsbeginn. Zwischen den einzelnen Gruppen ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede.

TABELLE 7

Gradeinteilung der atheromatösen Veränderungen der Aorta

Kaninchen Nr.	Gradeinteilung
GRUPPE I	
101	IV
106	III
109	III
112	I
118	III
121	III
GRUPPE II	
16	III
25	III
GRUPPE III	
2	II
12	III

E. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Wie wir heute wissen, spielt die Hypercholesterinämie als Teilfaktor bei der Entstehung der Arteriosklerose eine Rolle (SCHETTLER 1963).

Das Ziel unserer Arbeit war, die Beeinflussbarkeit der Folgen einer alimentären Hypercholesterinämie durch Verabreichung von Heparinoid bzw. MER zu prüfen. Da allgemein bekannt ist, daß bei der Arteriosklerose das Gesamteiweiß vermindert ist, könnte der in der Heparinoid-Gruppe nach 6 Wochen gefundene signifikant ($P < 0,01$) höhere Gesamteiweißgehalt als günstige Wirkung angesehen werden. Dagegen mag der in derselben Gruppe nach 12 Wochen signifikant niedrigere Albuminanteil im Serum als ungünstig bewertet werden, da der Albumingehalt im Serum bei der Arteriosklerose erniedrigt ist. Nachdem bekannt ist, daß die Beta-Globuline den höchsten Cholesteringehalt unter den Plasmaproteinen aufweisen, ist der bei der MER-Gruppe nach 6 Wochen signifikant höher gefundene Beta-Globulinanteil möglicherweise als ungünstiger Effekt dieser Substanz anzusehen. Da jedoch die Rolle der blutchemischen Faktoren in der Pathogenese der Arteriosklerose bis heute noch keineswegs vollständig geklärt ist, messen wir den bei unserer Versuchsanordnung vorgefundenen atherosklerotischen Herden an der Aorta in praktischer Hinsicht größere Bedeutung bei.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Entwicklung atheromatöser Gefäßveränderungen weder durch Heparinoid noch durch MER 29 gehemmt werden konnte, wenn auch der Organcholesteringehalt bei den behandelten Gruppen niedriger, jedoch nicht signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe war.

Auch die Unbeeinflussbarkeit der Entwicklung eines Arcus lipoides corneae spricht gegen einen therapeutischen Erfolg dieser Substanzen auf die Folgen einer experimentellen Hypercholesterinämie.

Weiterhin ist auffallend, daß die Sterbeziffer der Tiere während der Versuchsdauer beider behandelten Gruppen (Heparinoid-Gruppe 67 %, MER-Gruppe 71 %) wesentlich höher als in der Kontrollgruppe (25 %) lag. Es ist daher naheliegend, daß sowohl die Heparinoid- als auch die MER-Dosierung schon im toxischen Bereich lag. Da trotz dieser Dosierung bei unseren Untersuchungen keine eindeutig günstigen Wirkungen auf die Folgen der Hypercholesterinämie zu verzeichnen waren, halten wir diese beiden Substanzen zur Behandlung der Arteriosklerose für ungeeignet.

F. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Heparinoid und MER 29 auf die Folgen der experimentellen Hypercholesterinämie bei Kaninchen untersucht unter Prüfung von Cholesterin, Glukosamin, Gesamteiweiß und einzelnen Eiweißfraktionen im Serum. Es wurde der Cholesteringehalt in Leber, Aorta und Augengeweben bestimmt und die makroskopisch sichtbaren Aortenveränderungen und die Ausbildung eines Arcus lipoides beobachtet.

Nach 6-wöchiger Cholesterinfütterung konnte im Vergleich zu der Kontrollgruppe bei der Heparinoid-Gruppe ein signifikant höherer Eiweißgehalt im Serum gefunden werden. Dies könnte als günstiger Effekt des Heparinoids angesehen werden.

12 Wochen nach Fütterungsbeginn zeigte sich nach Heparinoid-Verabreichung ein signifikant niedriger Albuminanteil im Serum, was als ungünstig angesehen werden kann, da der Albumingehalt im Serum bei Arteriosklerose erniedrigt ist. Nach 6-wöchiger Cholesterinfütterung konnte bei der MER-Gruppe ein signifikant höherer Beta-Globulinanteil im Serum gefunden werden. Dies könnte möglicherweise als ungünstiger Effekt dieser Substanz angesehen werden.

Bei den übrigen blutchemischen Befunden konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den behandelten und den unbehandelten Tieren gesehen werden.

Heparinoid und MER 29 zeigten keinen Einfluß auf die Cholesterinspeicherungen in den untersuchten Organen.

Die durch Cholesterinfütterung verursachten atheromatösen Gefäßveränderungen der Aorta und die Arcus lipoides-Ausbildung waren in allen drei Gruppen stark ausgeprägt.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor
Dr. W. ROHRSCHEIDER danken für die Über-
lassung der Arbeit.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Professor
Dr. H. J. KÜCHLE für die Anweisung des
Themas und die Hilfe bei der Durchführung
der Versuche.

G. LITERATURVERZEICHNIS

- ANDERSON, N.G. et al.: Proc. Soc. 74, 768 (1950)
- ANITSCHKOW, N.: Beitr. path. Anat. 56, 379 (1913)
- ANITSCHKOW, N. u. S. CHALATOW:
Zbl. allg. Path. 24, 1 (1913)
- ASCHOFF, L.: Beitr. path. Anat. 47, 1 (1910)
- BLOHM, T.R. et al.: Circ. 16, 503 (1957)
- ENGELBERG, H.: Am. Journ. Med. 224, 487 (1952)
- FISCHER, F.W. et al.: Zbl. ophth. 72, 35 (1957/58)
- GOFMAN, J.W. et al.: Circ. 2, 161 (1950)
- GRAHAM, D. et al.: Circ. 4, 666 (1951)
- GRÜNER, A. et al.: Am. Journ. Med. 14, 433 (1953)
- HAHN, P.F.: Science 98, 19 (1943)
- HOLLANDER, W. et al.: Boston M. Quart. 10, 1 (1959)
- IGNATOWSKI, A.: Virch. Arch. 198, 248 (1909)
- JIPP, P.: Internist 6, 245 (1965)
- KELLER, R.: Mediz. 29/30, 995 (1954)
- LEVER, W.F. et al.: Zbl. ophth. 66, 233 (1955/56)
- MOSES, C. u. G.L. RHODES: Kongr. Zbl. i. Med. 157, 389 (1955)
- MYLIUS, K. u. H. STARK: Zbl. ophth. 66, 163 (1955/56)
- RIVIN, A.U. u. S.P. DIMITROFF:
Circ. 9, 533 (1954)
- ROBINSON, R.W. et al.: Circ. 14, 365 (1956)
- ROHRSCHNEIDER, W.: Graef. Arch. ophth. 115, 535 (1924)
- RUSS, E.M. et al.: Am. Journ. Med. 11, 468 (1951)
- RUSS, E.M. et al.: Am. Journ. Med. 19, 4 (1955)

- SCHETTLER, G.: Erg. in. Med. NF 6, 278 (1955)
- SCHETTLER, G. et al.: Wien. Med. Wschr. 113, 729 (1963)
- SEITZ, W. u. ZÖLLNER, N.:
Mediz. 26, 955 (1955)
- THURNHERR, A. et al.: Schweiz. Med. Wschr. 84, 285 (1954)
- VERSÉ, M.: Münch. Med. Wschr. 63, 1074 (1916)
- VOIGT, K.D. et al.: Dtsch. Arch. klin. Med. 204, 409 (1957)
- WAKERLIN, G.E.: Am. Int. Med. 37, 313 (1952)
- WINDAUS, A.: Z. phys. Chem. 67, 174 (1910)
- WUEST, J.H. et al.: Circ. 7, 6 (1953)

LEBENS LAUF

Erich Hauer, Assistent,
Regensburg, Prüfeningerstraße 88
evangelisch, verheiratet,
geboren am 3.1.1936 in Ödenburg/Ungarn
als Sohn des Kaufmanns Ludwig Hauer und
seiner Ehefrau Paula Hauer, geb. Bergmann.

1942-- 1945	Besuch der Volksschule Ödenburg
1945 - 1946	Volksschule Zeitlarn
1946 - 1947	Volksschule Vaihingen/Enz
1947 - 1953	Oberrealschule Vaihingen/Enz
1953 - 1956	Realgymnasium Mühlacker
1956	Reifeprüfung an dem Realgymnasium Mühlacker
SS 1956 - SS 1958	Studium der Medizin an der Universität Heidelberg
1958	Physikum an der Universität Heidelberg
WS 1958/59	Fortsetzung des Studiums an der Universität Hamburg
SS 1959	Studium an der Universität Heidelberg
WS 1959/60 - SS 1961	Beendigung des Medizinstudiums an der Universität München
1962	Staatsexamen an der Universität München
1962/63	Medizinalassistentenzeit im St. Barbara-Krankenhaus, Schwandorf
1963	Medizinalassistentenzeit an der I. Mediz. Universitätsklinik zu München
1964	Abschluß der Medizinalassistentenzeit in Schwandorf
1964	Assistentenzeit im Krankenhaus der Barmherzigen Brüder, Regensburg.

